RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

**Département de Biologie**

Laboratoire des Produits Naturels **(LAPRONA)**

# Mémoire

**Pour l'obtention du diplôme de Master en *Biologie***

Spécialité : **Nutrition et diététique**

Présenté et Soutenu le : **15-07-2019**

par :

**Melle MAHMOUDI Wissam**

Titre :

# *Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydantes des extraits d'Ephedra alata (alenda)*

Devant le jury composé de :

| | | |
|---|---|---|
| Présidente : **Mme Fawzia ATIK-BEKKARA** | **Professeur** | **Université de Tlemcen** |
| Examinateur : **Mr Chahid BENAMMAR** | **Maître de conférences A** | **Université de Tlemcen** |
| Promotrice :**Mme Farah CHAOUCHE-HADDOUCHI** | **Maître de conférences A** | **Université de Tlemcen** |

**Année universitaire 2018- 2019**

# Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouvelles molécules actives à partir des sources naturelles, notre travail s'est porté sur la recherche des métabolites secondaires (phénols totaux, flavonoïdes et tanins) et sur l'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits de l'espèce *Ephedra alata* (fleurs et tiges feuillées, séparément), appartenant à la famille des Ephedraceae.

Après avoir réalisé des extractions successives, sous reflux, par des solvants de polarité différente (Hexane, Dichlorométhane et Méthanol), des tests phytochimiques ont été faites sur tous les extraits de la plante étudiée. Cette espèce contient des tanins cathéchiques, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des terpènoïdes.

Les dosages des phénols totaux (PPT au réactif de Folin-ciocalte), des flavonoïdes (Fv au nitrite de sodium et au chlorure d'aluminium) et des tanins condensés (Tn à la vanilline), montrent que les extraits méthanoliques sont plus riches en ces composés. Celui des tiges feuillées est le plus riche (22,835 mg EAG/g MS pou les PPT, 3,604 mg EC/g MS pour les Fv et 26,676 mg EC/g MS pour les Tn).

L'étude de l'activité antioxydante, des extraits méthanoliques et de dichlorométhane, est déterminée, *in vitro*, en utilisant trois tests d'évaluation : l'activité antioxydante totale, le piégeage du radical DPPH, et la réduction de fer. Les extraits ont des propriétés antioxydantes à différents niveaux. L'extrait méthanolique des tiges feuillées présente une capacité antioxydante totale de l'ordre de 45,01 mg EAG/g MS, plus importante comparée aux autres extraits. Ceci est valable même pour les deux autres méthodes. Ses valeurs d'$IC_{50}$ et d'$EC_{50}$ sont, respectivement, 25,84 µg/ml et 958,4 µg/ml. Ces valeurs restent loin d'être comparables avec celles de l'antioxydant de synthèse, le butylhydroxyanisole (BHA), doué d'une activité importante.

Les résultats de l'analyse par CCM ont permis de confirmer la présence probable des composées phénoliques dans les extraits testés de cette espèce. Il s'agit des acides phénols, des flavonols, des isoflavones, des chalcones, des flavones, des anthocyanidine-3-glycosides et des tanins.

Mots clés : *Ephedra alata*, composés phénoliques, tests phytochimiques, Dosages, activité antioxydante, CCM.

# Abstract

As part of the discovery of new molecules active from natural sources, our work focused on the search for secondary metabolites (total phenols, flavonoids and tannins) and on the evaluation of the antioxidant activity of the various extracts of the species *Ephedra alata* (flowers and stems leafy, separately), belonging to the family of Ephedraceae.

After carrying out successive extractions, under reflux, with solvents of different polarity (Hexane, Dichloromethane and Methanol), phytochemical tests were made on all the crude extracts hexane, dichloromethanolic, and methanolic of the plant studied.This species contains catholic tannins, flavonoids, alkaloids and terpenoids.

Total phenols (PPT, Folin-ciocalte reagent), flavonoids (Fv, Sodium nitrite and aluminum chloride) and condensed tannins (Tn, Vanillin) show that the methanolic extracts of flowers and leafy stems are richer in these compounds. That of leafy stems is the richest (22.835 mg GAE / g MS for PPT, 3.604 mg CE / g MS for Fv and 26.676 mg CE / g MS for Tn).

The study of antioxidant activity of methanolic extracts and dichloromethane is determined, *in vitro*, using three evaluation tests: the total antioxidant activity, the trapping of the radical DPPH, and the reduction of iron.

The extracts have antioxidant properties at different levels. The methanolic extract of the leafy stems has a total antioxidant capacity of the order of 45.01 mg GAE / g MS, more important compared to the other extracts. This is valid even for the other two methods. Its $IC_{50}$ and $EC_{50}$ values are, respectively, 25,84 µg/ml and 958,4 µg/ml. These values remain far from being comparable with those of the synthetic antioxidant, butylhydroxyanisole (BHA), endowed with an important activity.

The results of the TLC analysis confirmed the probable presence of phenolic acids, flavonols, isoflavones, chalcones, flavones, anthocyanidin-3-glycosides and tannins.

**Keywords** :*Ephedra alata*, phenolic compounds, flavonoids, tannins, antioxydant activities, CAT, DPPH, reduction of iron, TLC analysis.

# ملخص


في اطار البحث عن جزيئات جديدة نشطة من المصادر الطبيعية ،كان موضوع عملناحول دراسة النواتج الايضية الثانوية(مجموع الفينولات والفلافونويدات والعفص) وعلى تقييم نشاط مضادات الأكسدة لمختلف المقتطفات من الأنواع *Ephedra alata*(أزهار وسيقان مورقة ، منفصلة) ، تنتمي إلى عائلةEphedraceae.

بعد إجراء عمليات الاستخراج المتتالية, التكثيف الراجع، بمذيبات ذات أقطاب مختلفة (الهكسان ، ديكلوروميثان والميثانول) ، أجريت اختبارات كيميائية نباتية على جميع المستخلصات الخام الهكسين ، وثنائي كلورو الميثانول ، و الميثانول.هذا النوع يحتوي على العفص الكاثوليكية ، والفلافونويد ، والقلويدات واليربينويدات.

يُظهر مجموع الفينول (مادة الكاشف فولينسيوكاتلو) والفلافونويد (نتريت الصوديوم وكلوريد الألومنيوم) والعفص (الفانيلين) أن المستخلصات الميثانولية من الزهور و السيقان الورقية أكثر ثراءً في مجموع البوليفينول والفلافونويد والعفص. السيقان الورقية هي الأكثر ثراءً (22.835 مجم مكافئ لحمض الغاليك / جم من المستخلص الجاف لمجموع الفينولات، 3.604مجم مكافئ لحمض الكاتشيك / جم من المستخلص الجاف للالفلافونويدات و 26.676 مجم مكافئ لحمض الكاتشيك / جم من المستخلص الجاف للعفص.

يتم تحديد دراسة نشاط مضادات الأكسدة ، ومقتطفات الميثانول وثاني كلورو ميثان ، في المختبر ، باستخدام ثلاثة اختبارات تقييم: النشاط الكلي لمضادات الأكسدة ، ومحاصرة DPPH الجذري ، وتقليل الحديد.

المقتطفات لها خصائص مضادة للأكسدة في مستويات مختلفة. يحتوي المستخلص الميثانولي للسيقان الورقية على قدرة إجمالية مضادة للأكسدة تصل إلى 45.01 مجم مكافئ لحمض الغاليك / جم من المستخلص الجاف ، وهو أكثر أهمية مقارنة بالمقتطفات الأخرى. هذا صحيح حتى بالنسبة للطريقتين الأخريين. قيم $IC_{50}$ و $EC_{50}$هي ، على التوالي ، 25,84ميكروغرام / مل و958,4ميكروغرام / مل. لا تزال هذه القيم بعيدة عن أن تكون قابلة للمقارنة مع تلك الخاصة بمضادات الأكسدة الاصطناعية ، بوتيل هيدروكسيانيزول (BHA) ، الممنوحة بنشاط مهم.

أكدت نتائج تحليل TLC وجود محتمل للأحماض الفينولية ، الفلافونول ، الأيسوفلافون ، الشالكون ، الفلافون ، الأنثوسيانيدون 3-جليكوسيدات وعفص.



**الكلمات الرئيسية :** *Ephedra alata*،مركبات فينولية،فلافونويد،عفص،نشاط مضاد للأكسدة،اختزال الحديد.